



TITLE:

青色光受容体フォトリポピンを含むAGCVIIIキナーゼの情報伝達機構の解析(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

山本, 和彦

CITATION:

山本, 和彦. 青色光受容体フォトリポピンを含むAGCVIIIキナーゼの情報伝達機構の解析. 京都大学, 2016, 博士(理学)

ISSUE DATE:

2016-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19537>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開

(続紙 1)

京都大学	博 士 (理 学)	氏 名	山本 和彦
論文題目	青色光受容体フォトトロピンを含む AGCVIII キナーゼの情報伝達機構の解析		
(論文内容の要旨)			
<p>植物の青色光受容体フォトトロピン(phot)の代表的な生理応答が光屈性である。近年、光屈性の情報伝達機構の解析は主にシロイヌナズナを用いて行われてきたが、芽生えのサイズが非常に小さいこともあり、シロイヌナズナの光受容領域や屈曲領域はこれまでよくわかっていなかった。光屈性が多細胞の応答である以上、それぞれの反応が起こる場所を明らかにすることは、個体レベルの情報伝達機構を理解する上で不可欠である。また、phot が属する AGCVIII キナーゼファミリーの研究が進み、これらのキナーゼが phot と類似した情報伝達機構で機能する可能性が浮上してきたが、この問題に phot 研究の立場から組織的に取り組んだ例はなかった。本研究では、phot や近縁の AGCVIII キナーゼの情報伝達メカニズムを明らかにするため、①phot が制御する光屈性の空間的な情報伝達機構、②AGCVIII キナーゼ情報伝達の共通様式について研究を行った。</p> <p>第 1 章では、シロイヌナズナにおける光屈性情報伝達機構の空間的な側面を明らかにするため、情報伝達の各ステップがどこで起きているのかを調べた。切除実験および部分照射実験から、胚軸先端 1.1 mm の領域が光屈性の光受容部位であることを明らかにした。また、胚軸の曲率解析の結果から、シロイヌナズナでは光受容領域と屈曲領域が近接しており、単子葉植物と比べて部位自律性が高いことが分かった。そこで、これらの領域（胚軸頂点から 1.1 mm の範囲）をまとめて光応答領域とした。</p> <p>光屈性の光受容体である phot の発現パターンおよび活性化状態、オーキシン応答遺伝子の発現解析、伸長量について領域ごとの解析を行った結果、光応答領域では、phot の発現および活性化から伸長までの各ステップが行われるのに対して、非応答領域では phot の発現は十分であり、活性化しているにもかかわらず、オーキシン（応答）の不均等なパターンは観察されなかった。以上の結果から、非応答領域では phot の活性化からオーキシン不均等分布形成の間で情報伝達がブロックされており、なんらかの要素を欠いていると考えられた。</p> <p>本章では、先端-基部方向の部位特異性に着目して解析を行ったが、光屈性の反応は胚軸の照射側と陰側でもその反応は異なる。しかしながら、照射側と陰側の情報伝達機構の違いに着目した研究はほとんどない。その理由の一つとして技術的な限界が挙げられる。近年、フェムト秒レーザーを利用した微細な組織の操作などが開発されてきており、今後、細かく領域を分けた解析が可能になると予想される。その際、第 2 章で試みた IR-LEGO による局所的な発現誘導などの新手法も強力なツールの一つとなると考えられる。</p> <p>第 2 章では、AGCVIII キナーゼの共通機構を明らかにすることを目的として解析を行った。そ</p>			

の結果、AGCVIIIキナーゼは共通して細胞質膜局在を示すこと、AGCVIIIキナーゼが phot の情報伝達系に影響を与えうることを示した。また、PID が phot と類似の情報伝達系を持つ可能性が示唆されたが、これについては今後さらに詳細な解析が必要である。AGCVIIIキナーゼの生理的な機能を組織的に比較したのは本研究が初めての試みである。細胞質膜局在が共通して観察されたことは、これらのキナーゼの情報伝達が細胞質膜上で開始されることを示唆している。今回多くの AGCVIIIキナーゼが phot 情報伝達系に影響を与えたことは予想外の結果であった。このことは様々な AGCVIIIキナーゼの情報伝達系が細胞内で交差している可能性を示しており、なんらかの共通因子が存在する可能性を示唆している。今後、それぞれの AGCVIIIキナーゼの情報伝達系を明らかにすることで、その共通機構を明らかにし、様々な外部シグナルが植物細胞内で影響を与え合うネットワークの一端を解明することができると期待される。

近年、光屈性の情報伝達機構に複数の AGCVIIIキナーゼが関与することが明らかになってきている。今後、各キナーゼに関する詳細な機能解析や機能領域を明らかにすることによって phot を介した光屈性の情報伝達機構を包括的に明らかにすることができると考えられる。

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、植物の光受容体であるフォトトロピンを対象に、その応答の空間的な制御機構および、類似するキナーゼの生理機能および作用機構について解析したものである。フォトトロピンは、植物の主要な光受容体であり、分子の実体は、青色光を吸収して活性化されるタンパク質キナーゼである。フォトトロピンは、様々な生理応答を制御しているが、中でも、光屈性、葉緑体定位、気孔開口は重要な応答であり、これらの応答の制御機構を明らかにすることは、植物生理学分野における重要な課題である。

本論文において申請者は、この問題に取り組むにあたり2つのアプローチを試みた。そのうちの 하나가、フォトトロピンの主要な生理機能である光屈性の空間的な解析である。イネ科の植物の芽生えを用いた古典的な光屈性の研究から、この応答の光受容部位が芽生え(子葉鞘)の先端であり、植物ホルモンであるオーキシンを介して、その下方に位置する屈曲部位へと情報が伝達されることが知られていた。一方、この応答に関わる分子の実体が、モデル植物であるシロイヌナズナを用いた研究により飛躍的に進んだ。しかしながら、イネ科が単子葉植物であるのに対してシロイヌナズナは双子葉植物であり、芽生えの構造も根本的に異なるため、両者における光屈性が、細胞、分子レベルでどの程度似ているのか不明であった。

申請者は、上記のギャップを埋めるため、シロイヌナズナの芽生えで古典的な解析を行うための手法を整え、様々な分子的手段と組み合わせることで、光屈性の空間的な解析を進めた。まず申請者は、自らが開発した部分照射装置を用いて、光受容部位と屈曲部位が非常に接近、あるいは区別できず応答の空間的な自律性が高いこと、その一方で、照射部位を頂端部とした場合は、短距離ではあるが下方へ向かってのシグナル伝達が認められることなどを示した。さらに、分子的なツールを駆使することで、フォトトロピンの発現領域やオーキシン応答が見られる部位が、上記の光応答部位を超えてさらに広がっていることを見出した。これらの発見は、双子葉植物の芽生えにおける光屈性の仕組みを理解する上で重要な成果と考えられる。

フォトトロピンは、植物の主要な光受容体であるということに加えて、植物特有の AGC VIII と名付けられたタンパク質キナーゼのグループの一員でもある。ここで植物は、進化の過程において、元になるキナーゼに様々な制御ドメインを組み合わせることにより、同キナーゼの機能を多様化させたと考えられる。そこで申請者は、これらのキナーゼの機能や作用機構を進めるため、典型的な AGC VIII キナーゼを同一条件下で植物体に強制的に発現させる実験系を開発して研究を進めた。この結果、これらのキナーゼで共通の細胞内分布パターンが見られること、生理活性が一致するわけでは無いが、場合により異なるキナーゼのシグナル伝達の間に干渉が見られることなどが明らかになった。これらの知見は、フォトトロピンを含む AGC VIII キナーゼの多様化機構に関する重要な基礎的知見であると評価される。

以上により、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成28年1月28日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公表可能日： _____ 年 _____ 月 _____ 日以降